
Auto-Mag® 小分子量DNA片段分选纯化回收试剂（磁珠法）

（Auto-Mag® Micro Size Select）

使用说明书（V-2.1）

产品目录号：S004-01, S004-02,

目录

免责声明和安全信息	1
产品介绍	2
试剂盒组成成分和包装规格	2
保存方法及注意事项	2
试剂准备	2
附加信息	3
Auto-Mag® 小分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂(磁珠法)操作程序	4
小片段 DNA 大小选择和纯化操作步骤（50 微升样品量）	4
DNA, RNA 标记探针, 或寡核苷酸纯化回收操作步骤	6
常见问题回答	7

免责声明和安全信息

该试剂盒仅限研究使用。不可用于诊断目的。所有生物样本都具有潜在传染性。使用试剂盒时请务必穿着合适的实验外套，一次性手套和护目镜。如需了解更多信息，请查阅相应的材料安全数据表 (MSDS)。

产品介绍

Auto-Mag®小分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂(磁珠法)是一种创新型试剂, 专为从各种来源(如剪切 DNA、PCR 或 RT-PCR 产物以及酶切反应)中回收和纯化小至 15 bp 的 DNA 片段而设计。该试剂的一个显著特点是能够精确回收目标大小范围内的 DNA 片段(15 bp-300 bp)。通过调整 Auto-Mag®小分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂与 DNA 样本的体积比, 研究人员可以实现精准的尺寸选择, 类似于双面 DNA 尺寸选择技术。纯化后的小 DNA 片段非常适用于多种下游应用, 包括 PCR、片段分析、荧光或放射性测序、毛细管电泳、DNA 标记和连接等。

Auto-Mag®小分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂(磁珠法)也是一种无 RNA 酶的试剂, 可高效用于从总 RNA 样本中富集 miRNA 并进行 RNA 大小选择。Auto-Mag®小分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂采用先进的磁珠技术, 兼容手动操作和自动化液体处理系统, 为小 DNA 和 RNA 片段的选择与纯化提供了一种多功能、高效且可靠的解决方案。

产品特点

可用于特定大小或尺寸范围的小 DNA 片段, miRNA, 或Oligo的回收纯化,

1. 有效纯化和回收短 DNA 和 RNA 样本

- dsDNA 片段 15 bp 或更长
- ssDNA 片段 20 nt 或更长
- 寡核苷酸和嵌合寡核苷酸 20 nt 或更长
- RNA 片段 20 nt 或更长

2. 针对特定应用选择短 DNA 和 RNA 样本的片段大小

- DNA 片段大小选择范围: 15bp 以上
- RNA 片段 25nt -200nt

试剂盒组成成分和包装规格

产品目录号	S004-01	S004-02
Auto-Mag®小分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂(磁珠法)	10 ml	100 ml
核酸解离液	10 ml	100ml

保存方法及注意事项

Auto-Mag®小分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂(磁珠法)是常温运输, 收到后可储存在 2-8°C, 有效期 12 个月。不要冷冻。

准备试剂

1. 准确配制 80% 乙醇（由无水乙醇制备，请勿使用工业乙醇）

注意：因为一般量筒精度偏差较大，不建议使用量筒配制。可采用称重方法配制。如配制好 100 毫升 80% 乙醇：称重 63.2 克（80 毫升）100% 无水乙醇，加入 20 克（20 毫升）去离子水。总重 83.2 克。即为 100 毫升 80% 乙醇。乙醇有吸湿性，随着时间的推移，乙醇会蒸发并吸收水分。80% 乙醇需新鲜配制，盖紧，一周内使用。

附加信息

1. 无需磁分离装置手动操作，

使用Auto-Mag®小分子量DNA片段分选纯化回收试剂(磁珠法)操作时，各步骤需要兼容的磁分离装置来沉淀磁性颗粒。如果不使用磁分离装置的情况下的手动操作纯化，可以采用离心方法使磁性颗粒形成沉淀和液体分离。可以将样品管或 96 孔板离心 30秒（单管: 全速；96 孔板: 3,000 x g。所有过程均在室温（15~25 °C）下进行。

Auto-Mag®小分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂 (磁珠法) 操作程序

用户自备材料和设备

- 采用单管形式纯化：无核酸酶 1.5~2.0 ml 管和磁分离架。
- 采用 96 孔板格式：96 孔 PCR 反应板，或容量为 300 微升圆底微量滴定板，或 1.2 ml 深孔微量滴定板和适当的磁分离装置。
- 96 孔板封板膜
- 实验室混合器、涡流器或类似设备。
- 80% 乙醇（由无水乙醇制备。请勿使用工业酒精）。
- 校准良好的移液器和一次性移液器吸头。

操作前准备工作

- 配制 80% 乙醇。
- 使用前将 Auto-Mag®小分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂放置于室温平衡至少 30 分钟。
- 涡旋振荡悬浮液 Auto-Mag® 小分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂。

DNA样本质量控制

- DNA 样品应为片段化的双链 DNA，并溶解在分子生物学级水或标准缓冲溶液（如 Tris 或 TE）中。
- 为获得最佳结果，样品体积应 ≥ 20 微升。体积越小，移液精度越低，导致分选变异性就越大。标准操作程序所要求的样品量为 50 微升。

小片段DNA大小选择和纯化操作步骤（50微升样品量）

要分离回收目标范围内的小 DNA 片段，必须先消除该范围之外的较大片段。该过程包括两个连续的分选步骤。

第一步，根据样本量和目标 DNA 片段的大小上限计算所需的 Auto-Mag® 小分子量DNA片段分选纯化回收试剂量。将计算出的试剂添加到样本中，以选择性地去除超过上限的 DNA 片段。磁分离后，将含有目标 DNA 片段的上清液转移到新管中。

第二步，重新计算分离所有目标 DNA 片段所需的小分子量DNA片段分选纯化回收试剂量，将其添加到上清液中，并充分混合。执行洗涤和洗脱步骤以回收所需范围内的 DNA 片段。具体回收范围和相应的试剂量列于下表中。

表1: 小片段DNA 大小选择的参考条件

预期回收的 DNA 大小范围 (bp)	<50bp	<75bp	<100bp	<200bp	<300bp
第一轮清除大片段 DNA 分选试剂的比例	1.2x*	1.0x	0.8x	0.6x	0.4x
第二轮回收小片段 DNA 分选试剂的比例	0.8x	1.0x	1.2x	1.4x	1.6x
总比例	2.0x	2.0x	2.0x	2.0x	2.0x

* 是 Auto-Mag® 小分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂用量与样品体积的比例值。

例如：如需从50微升样品中分选回收小于100bp的DNA片段：Auto-Mag®小分子量DNA片段分选纯化回收试剂用量计算方法：

第一轮清除大于100bp DNA所需的小分子量DNA片段分选纯化回收试剂的量为：50微升X 0.8=40微升。

第二轮回收预期小于100bp DNA所需的小分子量DNA片段分选纯化回收试剂的量为：50微升X 1.2=60微升。

1. 将 Auto-Mag® 小分子量DNA片段分选纯化回收试剂完全悬浮以保证磁珠混匀。
2. 将 50 微升样品加到 1.5 毫升小离心管，或 96 孔板中。如果样品不足50 微升，用去离子水补足至50 微升。
3. 根据所选择的回收DNA片段大小范围，参考表1，计算第一轮清除大片段DNA所需的Auto-Mag® 小分子量DNA片段分选纯化回收试剂的量。加入到样品中。
4. 涡旋混匀 10 秒，或移液器吹打 10 次混匀。室温放置 8 分钟。
注意：如果使用 96 孔板和涡旋混匀，则在涡旋之前必须使用 96 孔板封板膜封板。
5. 将 1.5 毫升小离心管 或 96 孔板放置于适当的磁分离装置上静置 5 分钟，或待溶液完全澄清后。
注意：加入的Auto-Mag® 小分子量DNA片段分选纯化回收试剂比率越高，磁珠需要澄清的时间就越长。
6. 保持样品在磁分离装置上，小心吸取所有的上清液体。转移到新的 1.5 毫升小离心管，或 96 孔板中。
注意：吸取液体时请勿触及或携带出管壁上的磁珠颗粒。
7. 参考表 2 第二轮分选比例，计算第二轮回收期望范围内小片段DNA所需的Auto-Mag® 小分子量DNA片段分选纯化回收试剂用量。加入到样品中。
8. 涡旋混匀 10 秒，或移液器吹打 10 次混匀。室温放置 8 分钟。
注意：如果使用 96 孔板和涡旋混匀，则在涡旋之前必须使用 96 孔板封板膜封板。
9. 将样品放置于适当的磁分离装置上静置 5 分钟，或待溶液完全澄清后，小心吸弃所有的液体。吸取液体时请勿触及管壁上的磁性颗粒。
10. 保持样品在磁分离装置上，加入 200 微升新鲜配制的 80% 乙醇漂洗磁珠，不必悬浮磁珠，室温温育 30 秒，吸弃所有的液体。吸取液体时请勿触及管壁上的磁性颗粒。
11. 重复步骤 10 一次。
12. 保持样品在磁分离装置上，室温下开盖 5分钟以晾干磁珠。
注意：完全除去所有的液体是非常重要的。必要时用移液器除去残余液体。
13. 取下磁分离装置上的 1.5 毫升小离心管或样品板，加入 20~50 微升解离液。涡旋混匀 20 秒，或移液器吹打 20 次重新悬浮的磁性颗粒。
14. 室温放置 5 分钟。

-
15. 将样品重新放置于适当的磁分离装置上静置 5 分钟，或待溶液完全澄清。
 16. 用移液器转移上清液到新的 1.5 毫升小离心管或 96 孔板。纯化回收的 DNA 分选产物可放置 -20°C 储存，或用于后续的实验。

DNA, RNA 标记探针，或寡核苷酸纯化回收操作步骤

要纯化和回收标记的 DNA、RNA 或寡核苷酸探针，请添加 2 倍于样品体积的 Auto-Mag® 小分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂和 100% 的异丙醇。然后通过简单的分离、洗涤和洗脱回收纯化的 DNA、RNA 或寡核苷酸探针。

1. 将 Auto-Mag® 小分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂完全悬浮以保证磁珠混匀。
2. 确定样品体积，转移至 1.5 毫升小离心管，或 96 孔板中。
3. 分别加入两倍于样品体积的 Auto-Mag® 小分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂和 100% 异丙醇。
例如：对于 50 微升样品，需加入 50 微升 $\times 2 = 100$ 微升的小分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂，和 100 微升的 100% 异丙醇。总体积约为 $(50 + 100 + 100 = 250)$
4. 涡旋混匀 10 秒，或移液器吹打 10 次混匀。室温放置 8 分钟。
注意：如果使用 96 孔板和涡旋混匀，则在涡旋之前必须使用 96 孔板封板膜封板。
5. 将样品放置于适当的磁分离装置上静置 5 分钟，或待溶液完全澄清后。
6. 保持样品在磁分离装置上，小心吸取所有的上清液体。转移到新的 1.5 毫升小离心管，或 96 孔板中。
注意：吸取液体时请勿触及或携带出管壁上的磁珠颗粒。注意：如果使用 96 孔板和涡旋混匀，则在涡旋之前必须使用 96 孔板封板膜封板。
7. 保持样品在磁分离装置上，加入 5 倍于样品体积的新鲜配制的 80% 乙醇漂洗磁珠。不必悬浮磁珠，室温温育 30 秒，吸弃所有的液体。吸取液体时请勿触及管壁上的磁性颗粒。
8. 重复步骤 7 一次。
9. 保持样品在磁分离装置上，室温下开盖 5 分钟以晾干磁珠。
注意：完全除去所有的液体是非常重要的。必要时用移液器除去残余液体。
10. 取下磁分离装置上的 1.5 毫升小离心管或样品板，加入 20~50 微升解离液。涡旋混匀 20 秒，或移液器吹打 20 次重新悬浮的磁性颗粒。
11. 室温放置 5 分钟。
12. 将样品重新放置于适当的磁分离装置上静置 5 分钟，或待溶液完全澄清。
13. 用移液器转移上清液到新的 1.5 毫升小离心管或 96 孔板。纯化回收的 DNA 分选产物可放置 -20°C 储存，或用于后续的实验。

常见问题回答

请参考下列列表解决纯化过程所碰到的问题。如需进一步帮助，请通过电话联系技术支持。若您对试剂盒存在问题或建议，或您在分子生物学碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽能力为您排忧解难。

现象	产生原因	建议方法
纯化回收率低	磁珠丢失	如果在去除上清液的过程中磁珠被吸到吸头中，与这些磁珠结合的核酸也会丢失。缓慢吸出并尽可能多地去除上清液而不干扰磁珠。
	试剂混合不充分	在磁珠结合混合和洗脱混合过程中需充分混合。以确保磁珠充分重悬。
	反应体积过大	大体积反应可以延长的结合和分离间。将结合时间增加至 10 分钟，并确保在去除上清液之前磁珠已充分靠壁。
	洗脱体积过低	洗脱体积小会导致回收率降低。这是因为少量的洗脱缓冲液总是留在包被磁珠后面。增加洗脱体积。
片段大小选择不正确	操作误差	确保使用准确的移液器，各操作步骤正确。
	样品/试剂体积比例不对	使用本手册中概述的体积比。
	用于洗涤步骤的乙醇浓度不足	使用新鲜配制的 80% 乙醇。随着时间的推移，乙醇通过蒸发和吸收大气中的水而变得更加稀释。因此，部分 DNA 沉淀进入溶液，DNA 片段被洗掉。
	磁珠干燥过度	室温下干燥磁珠的时间不要超过 15 分钟。过度干燥可能会导致洗脱效率降低。
干扰后续应用	乙醇残留	确保在最后的洗涤步骤后除去所有乙醇。在室温下干燥磁珠 5~10 分钟。
磁珠残留	磁分离时间太短	增加分离时间，使磁珠完全被磁分离装置吸引。